



Article Original

Capacité Anti Oxydante des Feuilles du *Moringa Oleifera* chez les Diabétiques de Type 2

Anti-oxidant activity of Moringa oleifera leaves on type 2 diabetic patients

Boubacar Sidiki I DRAME^{1,5}, Adama KONE^{1,5} ; Sow Djénéba SYLLA^{4,5} ; Yaya GOITA^{1,5} ; Djibril Mamadou COULIBALY^{3,5}, Rokia SANOGO^{2,5}, Bakary M CISSE⁵

RÉSUMÉ

Introduction. La poudre de feuilles de *moringa* séchées aurait un impact positif dans les variations du taux des antioxydants enzymatiques plasmatiques et érythrocytaires telles que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) la glutathion réductase (GR) et les antioxydants totaux (TAS) chez les diabétiques de type 2. L'objectif de notre travail était d'étudier les activités antioxydantes des feuilles de *Moringa oléifera* chez les patients diabétiques de type 2. **Méthodologie.** Il s'agit d'un essai clinique ouvert non randomisé chez des diabétiques de type 2 qui ont été mis sous régime alimentaire supplémentaire à base de poudre de feuille de *Moringa oleifera* « Modia », en raison de 10 g par jour et pendant six mois. A l'inclusion avant instauration de toute supplémentation avec le Modia, les patients inclus constituaient le groupe témoin, le deuxième groupe était constitué par les patients qui revenaient au contrôle de trois mois de supplémentation (groupe M3) et le troisième groupe au contrôle de six mois de supplémentation Modia (groupe M6). Cent quarante-quatre (144) patients au total répartis entre : Témoins (48), Groupe M3 (48) et groupe M6 (48) patients. Les paramètres biochimiques mesurés étaient les marqueurs du stress oxydatif (TAS, SOD, GPx, le GR) dans le plasma et érythrocytaire. Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre UV et visible par les méthodes enzymatiques. **Résultats.** Les patients de sexe féminin représentaient 75% de l'effectif. L'âge moyen était de $50 \pm 11,55$ ans (extrêmes 22 à 72 ans). Les statuts oxydatifs des patients ont été améliorées positivement, le TAS a diminué de $1,80 \pm 0,78$ à $1,56 \pm 0,36$ UI/L ($P=0,00000$), la SOD plasmatique a augmenté de $226,90 \pm 36,96$ à $233,29 \pm 17,99$ UI/L ($P=0,00000$), la SOD érythrocytaire de $225,27 \pm 39,08$ à $1556,04 \pm 291,05$ UI/L ($P=0,00000$) la GPX plasmatique (UI/L) de $2177,0 \pm 2517,19$ à $17249,10 \pm 3220,0$ ($P=0,00865$), et la GR plasmatique (UI/L) de $43,62 \pm 27,99$ à $66,89 \pm 16,98$ ($P=0,00049$) ont significativement augmenté après l'instauration du traitement à base de Modia ($P\text{-value} < 0,05$). **Conclusion.** Notre étude a montré que les feuilles du *Moringa oleifera* ont une capacité anti oxydante sur la stabilisation du système redox des diabétiques de type 2.

ABSTRACT

Introduction. Powder of dry leaves of *moringa olifeira* have ben reported to influence positively the variations of plasma and red cell antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), glutathion peroxidase (GPx), glutathion reductase (GR) and total antioxidants (TAS) in patients suffering of type 2 diabetes. The aim of our work was to measure the anti-oxidant activity of dried leaves of *moringa olifeira* on type 2 diabetic patients. **Methodology.** This was an open non randomized clinical trial that was conducted on type 2 diabetic patients. They were given extracts of dried leaves of *moringa olifeira* (Modia) for a period of six months, at a dosage of 10 grams per day. Diabetic patients served as their own control before taking the powder. We then created a second group of patients who were those who were examined three months after the introduction of dried leaves of *moringa* (M3). The third group was those of patients who came for examination six months after the introduction of the *moringa* leaves (M6). The population study was as follows: for a total of 144 patients, there were 48 patients in the control group, 48 patients in the M3 group and 48 in the M6 group. Our biochemical data of interest were markers of oxidative stress (TAS, SOD, GPx and GR) in the plasma and in the erythrocytes. We used a UV spectrophotometry and enzymatic methods. **Results.** Female patients represented 75% of the population. The mean age was 50 ± 11.55 years (range: 22 - 72). Over all, oxidative status of patients was significantly improved ($P\text{-value} < 0.05$) with the introduction of Modia. TAS decreased from 1.80 ± 0.78 to 1.56 ± 0.36 UI/L ($P=0.00000$), plasma SOD increased from 226.90 ± 36.96 to 233.29 ± 17.99 UI/L ($P=0.00000$), red blood cell SOD from 225.27 ± 39.08 to 1556.04 ± 291.05 UI/L ($P=0.00000$), plasma GPX (UI/L) from 2177.0 ± 2517.19 to 17249.10 ± 3220.0 ($P=0.00865$), and plasma GR (UI/L) from 43.62 ± 27.99 to 66.89 ± 16.98 ($P=0.00049$) **Conclusion.** Our work show that dried leaves of *Moringa oleifera* have anti-oxidant action on the stabilization of redox system of patients suffering of type 2 diabetes.

- 1 Service laboratoire et d'anatomo-pathologie de l'Hôpital du Mali
- 2 Département Médecine Traditionnelle
- 3 Laboratoire de biologie médicale et de l'hygiène hospitalière du Point G
- 4 Service de médecine et d'endocrinologie de l'hôpital du Mali
- 5 Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako

Auteurs correspondants :

- Boubacar Sidiki Ibrahim Dramé, bdrameml@yahoo.fr; Mobile : 00223 73109808
- Djibril Mamadou COULIBALY, codjim@yahoo.fr ; Mobile : 00223 76140079
- Pr Bakary M CISSE, bcisse@mesrs.ml; Mobile : 00223 66747858

Mots clés : Diabète type 2, feuille de *Moringa oleifera*, stress oxydatif.

INTRODUCTION

Le diabète, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), est la première épidémie non-infectieuse qui touche l'humanité. Le diabète de type 2, la forme la plus répandue, se caractérise par une altération de la sécrétion de l'insuline par le pancréas et par une résistance à l'action de l'insuline au niveau des tissus périphériques, notamment au niveau du muscle squelettique (1). Le changement des modes de vie, la réduction de l'activité physique, et l'obésité généralisée contribuent à l'augmentation du nombre de patients atteints de diabète. La prévalence mondiale du diabète chez les adultes (âgés de 20 à 79 ans) sera de 6,4 %, touchant 285 millions d'adultes, en 2010, et passera à 7,7 %, et 439 millions d'adultes, en 2030. (2).

Le mécanisme de cette insulino-résistance découlerait des altérations mitochondriales observées dans le muscle squelettique des patients diabétiques. Cela induirait le stress oxydatif avec l'accumulation des lipides et le développement de l'insulino-résistance (3). Ces altérations mitochondriales ont été retrouvées dans des modèles de diabète chez la souris ; elles ne précédaient pas l'apparition de l'insulino-résistance et semblaient en fait être la conséquence d'une diminution des capacités oxydatives associée à l'hyperglycémie et à l'hyperlipidémie. Ces résultats, confirmés in vitro dans les cellules musculaires humaines, font du stress oxydatif une nouvelle cible pour améliorer les capacités oxydatives dans le muscle des patients obèses et diabétiques de type 2 (4, 5). Les extraits de *Moringa* peuvent être très bénéfiques pour la santé en raison de leur richesse en vitamines, protéines et sels minéraux. Les feuilles de *Moringa* se distinguent par leur haute teneur en vitamines et en sels minéraux, elles contiennent trois fois plus de potassium que les bananes et 8 fois plus de la vitamine C trouvée dans les oranges, mais le *Moringa* contient également de la vitamine A, vitamine E, vitamine K et les vitamines B (6-9). Ces différents éléments cités ont un pouvoir antioxydant, capable de piéger les radicaux libres des espèces dérivées de l'oxygène très réactives (ERO) (10) et maintenir l'équilibre du stress oxydatif chez un individu en apportant des oligoéléments nécessaires aux fonctionnements des enzymes antioxydantes (GPx, SOD). Ce qui pourrait expliquer son apport bénéfique dans la plupart des maladies métaboliques comme le diabète de type 2 (11-13). L'objectif de ce travail était d'étudier les activités antioxydantes des feuilles du *Moringa oléifera* chez les patients diabétiques de type 2.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

C'était une étude prospective, descriptive cas témoins évaluant le statut du stress oxydatif qui s'est déroulée d'octobre 2018 à décembre 2020. Les patients ont été recrutés au niveau du service d'endocrinologie et de maladie métabolique du centre hospitalier universitaire Hôpital du Mali.

Ont été inclus, les patients diabétiques de type 2 diagnostiqués sous surveillance médicale, qui ont volontairement accepté de prendre sous forme de poudre de feuilles séchées et pulvérisées de *Moringa oléifera* comme complément thérapeutique.

Il s'agissait des sujets adultes sans distinction de sexe ayant donné leur consentement libre et éclairé et écrite à participer à l'étude. N'ont pas été inclus dans l'étude, les diabétiques de types 2 prenant d'autres médicaments en dehors du traitement classique médicale, les patients diabétiques de type 2 présentant des complications aiguës du diabète et les diabétiques du type 1.

Les poudres de feuilles de *Moringa oleifera* ont été récoltées, traitées et conditionnées par le département de médecine traditionnelle de l'institut national de recherche en santé publique (DMT/INRSP). Les échantillons sanguins ont été prélevés et analysés au laboratoire d'analyse de biologie médicale de l'Hôpital du Mali.

Les patients inclus ont été réparti en 3 groupes thérapeutiques :

- le premier groupe (Groupe témoins) a été sous le traitement médical seul ;
- le deuxième groupe (Groupe M3) a reçu trois mois de traitement à base de poudre de feuille de moringa en raison de 10 grammes par jour en plus du traitement médical ; et
- le troisième groupe (Groupe M6) a reçu six mois de traitement à base de poudre de feuilles de *Moringa oleifera* en plus du traitement médical.

Méthodes de l'étude

Matériel végétal

Le matériel végétal était les feuilles de *Moringa oleifera* récoltées à Koutiala puis identifier au DMT. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à l'abri des rayons solaires et ont été pulvérisées et conditionné dans les boites de 300 g. Le contrôle de qualité et caractérisation des constituants chimiques ont été effectués. Le contrôle botanique a concerné l'examen macroscopique, les caractères organoleptiques ; la couleur, l'odeur, la saveur et la granulométrie de la poudre. L'examen microscopique a ciblé la détermination des éléments microscopiques contenus dans les échantillons.

Mode d'administration

La poudre de feuilles de *Moringa oleifera*, a été administrée, à la dose de 06 à 10g (1 cuillère à thé = environ 3 g) de poudre par jour en deux prises, avant le repas ou mélanger au repas liquide épais comme du yaourt ; les boissons liquides chaudes ou utiliser pour assaisonner les aliments.

A chaque rendez-vous, une quantité de poudre de feuille de *Moringa* a été donnée au patient sous surveillance médicale. Pour chaque période de rendez-vous, une consultation médicale était réalisée et un prélèvement sanguin a été effectué pour le dosage des marqueurs de suivi du diabète et les marqueurs du stress oxydatifs.

Les variables étudiées étaient les données sociodémographiques (âge, sexe), antécédent de diabète, présence de complications, date de découverte de la maladie, traitements en cours, durée de supplémentation en *Moringa oleifera*, quantité et rythme de consommation du *Moringa oleifera*.

Les marqueurs biochimiques dosés étaient :

- Glutathion peroxydase érythrocytaire et plasmatique (GPx) ;
- Superoxyde dismutase (SOD) érythrocytaire et plasmatique ;
- Glutathion réductase (GR) érythrocytaire et plasmatique ;
- Statut anti-oxydant total (TAS) ;

Procédure de prélèvement

Un prélèvement du sang veineux a été réalisé sur tube héparine au pli du coude. Le test a été effectué sur le plasma après centrifugation 2500g et sur l'hémolysat érythrocytaire.

Préparation d'érythrocyte : pour préparer la solution de travail on a dilué le contenu d'une fiole de Drabkin avec 480 ml de l'eau distillée. Elle a été stockée et protégée contre la lumière pour une conserver pendant 6 mois ou plus une fois stocker à +15 à +28°C

Nous avons dilué 0.05 ml de sang entier héparinisé avec l'agent de dilution de 1 ml, ensuite incubé pendant 5 mn puis ajouté 1 ml du réactif de double Drabkin. Les échantillons ont été homogénéisés et analysés dans un délai de 20 mn après l'ajout du réactif de Drabkin

Glutathion peroxydase (GPX) : elle a été dosée avec la méthode cinétique enzymatique de Paglia et Valentine 1967. La diminution de l'absorbance de NADPH a été mesurée à 340 nm. Valeur de référence : 27.5 – 73.6 U/g Hb soit 4171 – 10881 U/L.

Superoxydes dismutase (SOD) : la méthode de dosage xanthine couplée à la xanthine oxydase a été utilisée pour produire des radicaux de superoxyde qui réagissent avec 2(4-iodophenyl) – 3(4-nitrophenol) – le chlorure 5-phenyltetrazolium (I.N.T) pour former un colorant le rouge formazan. L'activité du superoxyde dismutase est alors mesurée par le degré d'inhibition de cette réaction. Une unité de SOD entraîne une inhibition de 50% du taux de réduction dans les conditions de l'analyse. Valeurs de référence : Plasma / sérum : 164 – 240 U/ml Erythrocytaire : 1102 – 1601 U/g Hb

Glutathion réductase : la méthode enzymatique avec comme coenzyme le NADPH a été utilisée. Valeur de référence : 4.7 – 13.2 U/g Hb soit 33 – 73 U/L

Statut antioxydant total (TAS) : la méthode à ABTS (2,2-Azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonate) a été utilisée avec la peroxydase (méthémoglobine) et H₂O₂ pour produire le radical cation ABTS avec une mesure de l'intensité de la coloration à 600 nm. Valeur de référence : 1.30 – 1.77 mmol/L

Biais et contrôle de qualité

Les biais de sélections ont été traités par l'implication des spécialistes en endocrinologie et maladies métaboliques dans le recrutement des diabétiques de type 2. Les erreurs analytiques ont été traitées par une calibration

systématique et vérification technique par un système de contrôle de qualité interne introduit dans chaque série de tests biochimiques.

Le plan d'analyse des résultats

Le Test d'ANOVA, a été appliqué pour vérifier l'inégalité des moyennes à distribution normale. Le Test de Bartlett pour l'inégalité des variances de population ; et le Test de Kruskal-Wallis pour deux groupes. La significativité des tests statistiques est exprimée pour une valeur de *p* inférieure ou égale à 0,05.

Les considérations éthiques

Les patients ont suivi leur traitement selon les recommandations internationales de suivi et traitement du diabète. Tous les diabétiques inclus dans l'étude ont été informés du contenu du protocole d'étude, leur consentement libre, éclairé et écrit ont été obtenus avant leur inclusion. Les résultats ont été traités tout en gardant l'anonymat selon les règles d'éthiques et le principe de la déontologie médicale. Les patients ont été informés chacun en ce qui le concerne des résultats de son bilan sanguin en statut oxydatif et bilan de routine. Tous les malades présentant un malaise ou d'autres complications au cours de l'étude ont bénéficié d'un accompagnement médical supporté par le projet.

RÉSULTATS

Les patients diabétiques de type 2 étaient majoritairement du sexe féminin (108/144) avec l'âge moyen de 50,05 ±11,55 ans contre les hommes (36/144) avec un âge moyen de 60,75 ±8,813 ans. Il existe une différence entre les moyennes du sexe (P = 0,00000), cependant il n'existe pas de différence entre les deux populations (Chi carré de Bartlett= 3,47848 df=1 Valeur P=0,06217)

Les patients étaient âgés de 22 ans à 72 ans, la majorité était dans la tranche d'âge 40 à 60 ans (81/144). La différence entre les deux populations, homme et femme en fonction de l'âge était statistiquement significative (Chi-Square 22,8148 ; Probabilité = 0)

La durée moyenne de découverte du diabète était de 4,25± 3,35 ans chez les femmes et 4,41±4,87 ans chez les hommes, avec des extrêmes d'un à 19 ans. 77,08% des patients avaient découvert leur diabète 5 ans auparavant ou plus. Il n'existait aucune différence statistiquement significative entre les moyennes de durée de la découverte de leurs diabètes quel que soit le sexe, (ANOVA, P-value = 0,81929)

Concernant les complications et comorbidités, nous avons trouvé une absence de complication dans 129 cas (89,58%), une neuropathie périphérique dans 9 cas (6,25%), une hypertension artérielle dans 3 cas (2,08%), et une infection dans 3 cas (2,08%).



Marqueurs enzymatiques du stress oxydatif

Tableau I : Répartition des patients diabétiques de type 2 selon l'évolution du taux moyen des marqueurs du stress oxydatif et les différents groupes thérapeutiques.

Patients (cas / témoins)	N	Moyenne des valeurs plus ou moins écart type						
		TAS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{L}$)	SOD plasmatique (U/L)	SOD érythrocytaire (U/L)	GPX plasmatique (U/L)	GPX érythrocytaire (U/L)	Glutathion réductase plasmatique (U/L)	GR érythrocytaire (U/L)
Témoins	48	1,80±0,78	226,90±36,96	225,27±39,08	2177,0±2517,19	35,42±25,96	43,62±27,99	7,36±4,05
Groupe M3	48	1,47±0,72	230,40±21,78	1365,66±271,95	17683,64±2049,14	54,44±23,78	60,87±17,75	7,69±3,66
Groupe M6	48	1,56±0,36	233,29±17,99	1556,04±291,05	17249,10±3220,0	50,56±18,13	66,89±16,98	8,11±4,21
P-value		0,00000	0,00000	0,00000	0,00865	0,04734	0,00049	0,61660

TAS : Statut total antioxydant ; SOD : Superoxyde dismutase ; GPX : Glutathion peroxydase ; GR : Glutathion réductase

La répartition des patients diabétiques selon l'évolution du statut oxydant total (TAS) et les groupes thérapeutiques, témoins, groupe M3 et groupe M6, ont montré une diminution progressive du taux oxydant total (TAS) des patients diabétiques dès l'instauration du traitement au bout de trois mois et six mois avec une différence statistiquement significative. (ANOVA, P-value = 0,045 ; Bartlett's chi square = 26,82374; df = 2; P value = 0,00000).

Tableau II : Répartition des groupes thérapeutiques selon la variation des marqueurs du stress oxydatif par valeurs usuelles (basse, normale, et élevée)

Valeurs usuelles (basse, normale, et élevée)	Groupes thérapeutiques des patient diabétique type 2						
	Témoins	Groupe M3		Groupe M6		Total	
Statut total antioxydant (TAS) mmol H₂O₂/L							
<=1	6	12,50%	7	14,58%	0	0,00%	13
>1 - 2	25	52,08%	34	70,83%	42	87,50%	101
>2	17	35,42%	7	14,58%	6	12,50%	30
Total	48	100%	48	100%	48	100%	144
Superoxyde dismutase (SOD) plasmatique U/L							
<=164	5	10,42%	0	0,00%	1	2,08%	6
>164 - 240	22	45,83%	32	66,67%	30	62,50%	84
>240	21	43,75%	16	33,33%	17	35,42%	54
Total	48	100%	48	100%	48	100%	144
Superoxyde dismutase (SOD) érythrocytaire U/g Hb							
<=1102	48	100,00%	2	4,17%	0	0,00%	50
>1102 - 1601	0	0,00%	41	85,42%	34	70,83%	75
>1601	0	0,00%	5	10,42%	14	29,17%	19
Total	48	100%	48	100%	48	100%	144
Glutathion Peroxydase (Gpx) Plasmatique U/L							
<=4171	39	81,25%	0	0,00%	1	2,08%	40
>4171 - 10881	9	18,75%	0	0,00%	0	0,00%	9
>10881	0	0,00%	48	100,00%	47	97,92%	95
Total	48	100,00%	48	100,00%	48	100,00%	144
Glutathion peroxydase (GPX) érythrocytaire U/g Hb							
<=27	24	50,00%	6	12,50%	0	0,00%	30
>27 - 74	19	39,58%	30	62,50%	42	87,50%	91
>74	5	10,42%	12	25,00%	6	12,50%	23
Total	48	100,00%	48	100,00%	48	100,00%	144
Glutathion réductase (GR) plasmatique U/L							
<=33	21	43,75%	4	8,33%	2	4,17%	27
>33 - 73	21	43,75%	33	68,75%	31	64,58%	85
>73	6	12,50%	11	22,92%	15	31,25%	32
Total	48	100,00%	48	100,00%	48	100,00%	144
Glutathion réductase (GR) érythrocytaire U/g Hb							
<=5	19	39,58%	15	31,25%	12	25,00%	46
>5 - 13	23	47,92%	29	60,42%	29	60,42%	81
>13	6	12,50%	4	8,33%	7	14,58%	17
Total	48	100,00%	48	100,00%	48	100,00%	144

On constate une normalisation du taux oxydant total sous traitement de poudre de feuille de moringa qui évolue de 52% avant le traitement à 87% six mois après

l'instauration du traitement à base de moringa. (Chi-Square = 18,3124 ; df = 4; Probability = 0,0011)

On constate une normalisation du taux oxydant total sous traitement de poudre de feuille de moringa qui évolue de 52% avant le traitement à 87% six mois après l’instauration du traitement à base de moringa. (Chi-Squared = 18,3124 ; df = 4; Probability = 0,0011)

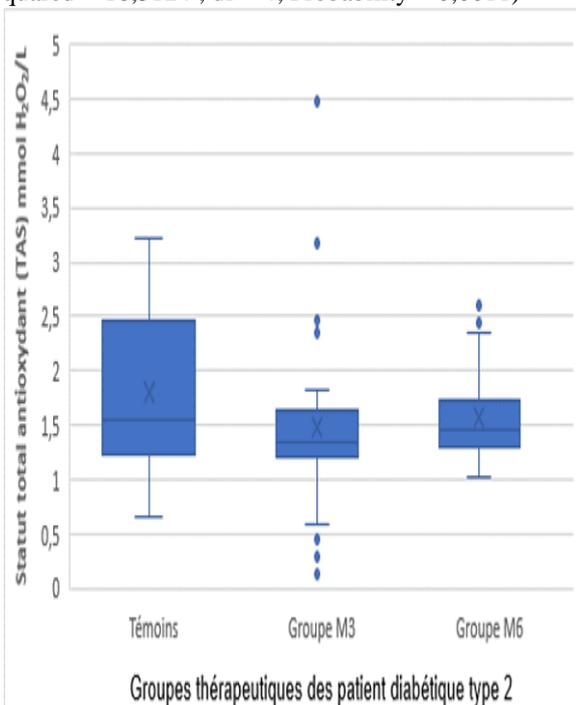


Figure 1 : Répartition des groupes thérapeutiques selon la concentration du statut antioxydant total (TAS)

La répartition des patients diabétiques selon l’évolution de la concentration de la superoxyde dismutase plasmatique et les groupes thérapeutiques témoins, groupe M3 et groupe M6 montre que le taux moyen de superoxyde dismutase (SOD) plasmatique n’a pas augmenté d’une manière significative après l’addition du moringa au traitement des patients diabétique, (ANOVA, P-value = 0,50742). Cependant une différence entre les trois groupes (avant, et trois et six mois après le traitement) était observée dans le sens de normalisation du taux au sein des thérapeutiques et trois et six mois de traitement à base de moringa (Bartlett's chi square = 27,08359 ; df = 2; P value = 0,00000)

La répartition des patients diabétiques selon l’évolution de la concentration de la superoxyde dismutase (SOD) plasmatique et les groupes thérapeutiques, témoins, groupe M3 et groupe M6 montre que le nombre de patients ayant un taux plasmatique de SOD normalisé avant et après l’addition du moringa au traitement a évolué de 45,83% à 62,5%, par une augmentation du taux de SOD plasmatique pour cela qui avaient un taux faible et une diminution à la normale pour cela qui avaient un taux élevé. (Chi-Squared = 9,7778 ; df = 4; Probability = 0,0443)

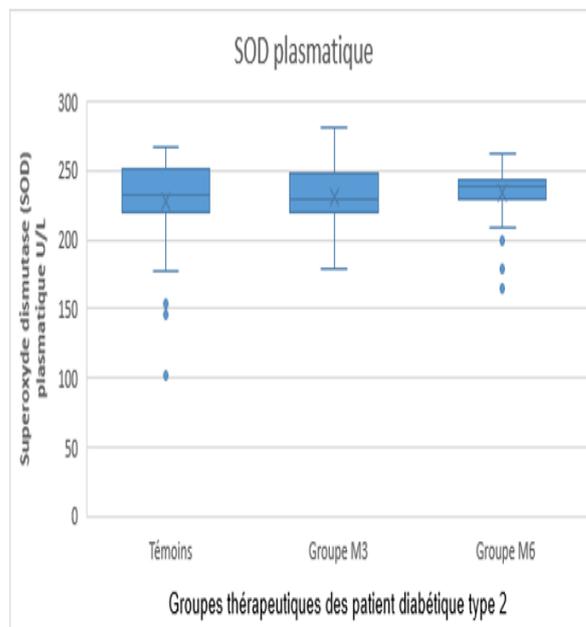


Figure 2 : Répartition des groupes thérapeutiques selon la concentration de la superoxyde dismutase plasmatique (SOD)

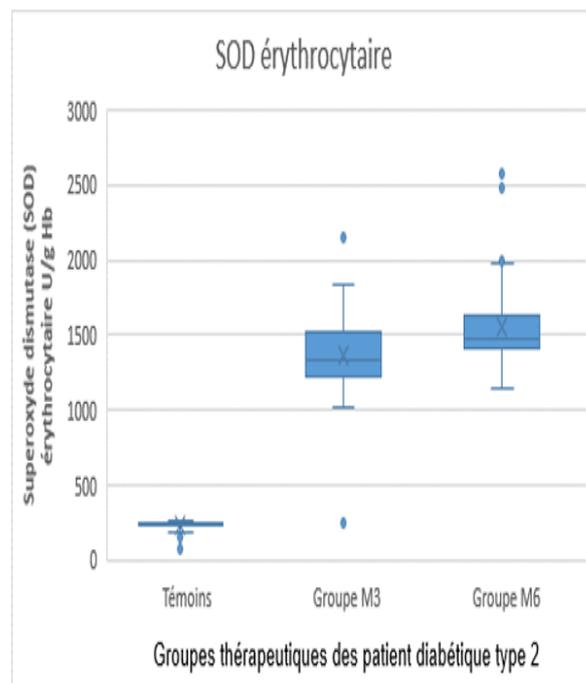


Figure 3 : Répartition des groupes thérapeutiques selon la concentration de la superoxyde dismutase érythrocytaire

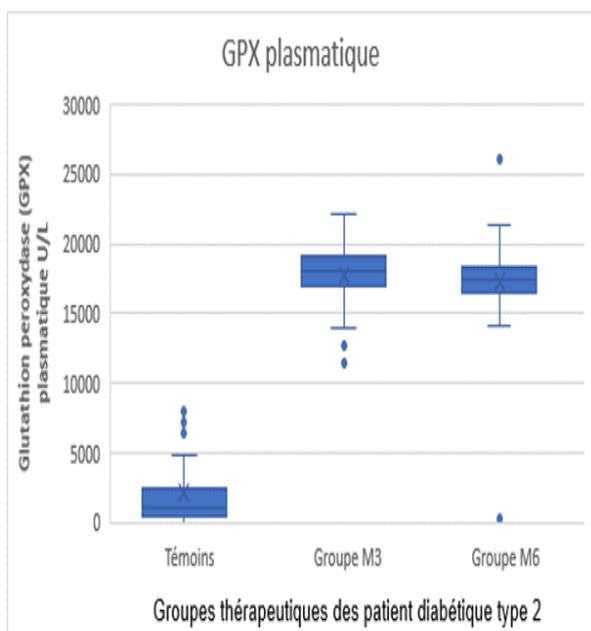


Figure 4 : Répartition des groupes thérapeutiques selon la concentration de glutathion peroxydase plasmatique

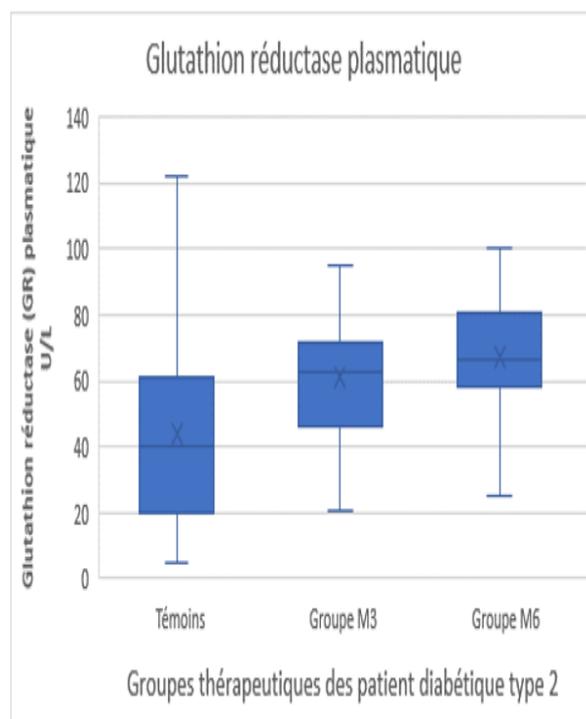


Figure 6 : Répartition des groupes thérapeutiques selon la concentration de glutathion réductase plasmatique

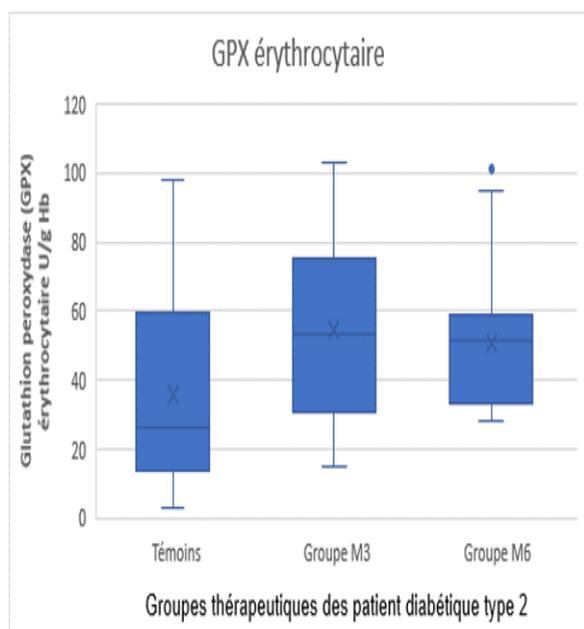


Figure 5 : Répartition des groupes thérapeutiques selon la concentration de glutathion peroxydase érythrocytaire

Le taux moyen de glutathion réductase (GR) érythrocytaire n'a pas augmenté d'une manière significative après l'addition du moringa au traitement des patients diabétiques. (ANOVA, P-value = 0,65235). Il n'y a pas eu également de différence entre les trois groupes (avant, et trois et six mois après le traitement) (Bartlett's chi square = 0,96706 ; df = 2 ; P value = 0,61660).

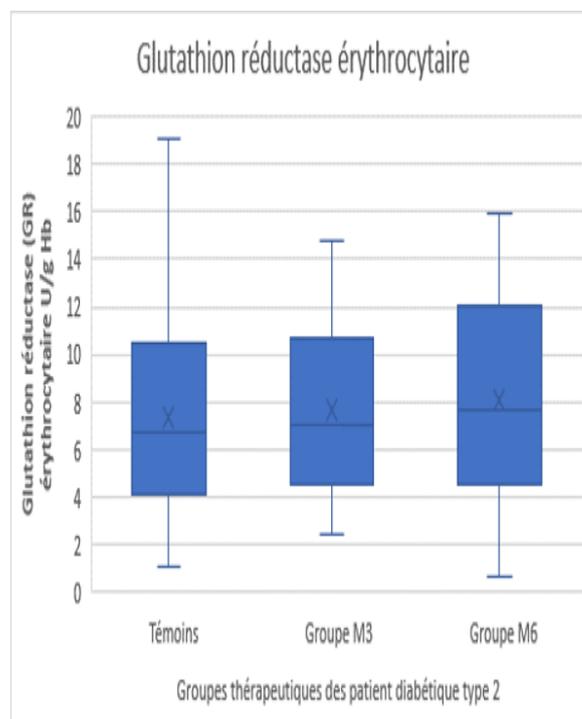


Figure 7 : Répartition des groupes thérapeutiques selon la concentration de glutathion réductase érythrocytaire



DISCUSSION

Cette étude a été motivée par le constat fait lors de notre étude de mémoire de master de biochimie sur les stress oxydatifs chez les diabétiques, que certains patients avaient un équilibre des enzymes antistress oxydatives, contraire à notre hypothèse, l'interrogatoire supplémentaire note l'utilisation de traitement traditionnel à base de moringa. Le *Moringa oleifera* a été également la plante la plus utilisée selon les résultats de la thèse de Mariam KONE 2016-2017 sur les Plantes médicinales utilisées par les patients diabétiques dans le district de Bamako.

Caractéristiques épidémiologiques

La majorité des patients étaient du sexe féminin 75% ; la sex-ratio était de 0,33. L'âge de nos patients a varié de 22 ans à 72 ans avec un âge moyen de 50 ans +/- 11,55 chez les femmes et 60,75 +/- 8,81 ans chez les hommes.

La différence entre les deux populations, homme et femme en fonction de l'âge était statistiquement significative (Chi-Squared 22,8148 ; Probabilité = 0). Les limites d'âge choisit ciblaient les patients diabétiques de type 2 dont la majorité se situe entre 35 à 54 ans (17).

Nos patients étaient connus diabétiques depuis un (1) an à dix-neuf (19) ans avec une moyenne de durée de la maladie de 4,33 ans quel que soit le sexe. Il n'existait pas de différence statistiquement significative entre la durée moyenne de découverte du diabète et le sexe, (ANOVA, P-value = 0,33266). Selon la littérature, la survenue des complications de diabète de diabète de type 2 est fonction de la durée de la maladie. Les lésions rétinienne affectent 15 à 55 % des diabétiques. L'atteinte rétinienne est présente lors de la découverte de la maladie 25 % de type 2 tardivement découverts (17).

Aucune pathologie de complication diabétique n'était associée dans 89,58% des cas. Les pathologies associées étaient les neuropathies périphériques, l'infection et l'HTA dans respectivement 6,25% ; 2,08% pour les deux derniers. Il a été rapporté dans certaines études que les complications au cours du diabète de type 2 aiguës rencontrées étaient infectieuses (41,93 %), métaboliques (22,86 %) décompensations aiguës de complications dégénératives (28,57 %) (18).

Traitement supplémentaire

Durant la période de surveillance (trois mois et six mois) des patients sous MODIA Poudre en supplémentation, un seul cas d'intolérance a été signalé sous forme de diarrhée avec deux cuillerées à café trois fois par jour. Une réduction de la dose de moitié a permis au patient de supporter le traitement.

Ces propriétés ont été appuyées par certaines études qui rapportent que, les phytomédicaments sont censés présenter des avantages par rapport aux médicaments conventionnels et suscitent un regain d'intérêt dans la recherche actuelle. Le *Moringa oleifera* est une plante médicinale polyvalente utilisée dans le monde entier pour l'alimentation humaine et comme alternative à des fins médicinales (13). Elle a été identifiée par les chercheurs comme une plante présentant de nombreux avantages pour la santé, y compris des avantages nutritionnels et

médicinaux. Le *Moringa oleifera* contient des acides aminés essentiels, des caroténoïdes dans les feuilles et des composants ayant des propriétés nutraceutiques, ce qui soutient l'idée d'utiliser cette plante comme complément nutritionnel ou comme constituant dans la préparation des aliments. Une certaine évaluation nutritionnelle a été réalisée dans les feuilles et la tige (6, 19). Un facteur important qui explique les utilisations médicinales du *Moringa oleifera* est sa très large gamme d'antioxydants, d'antibiotiques et de nutriments vitaux, y compris les vitamines et les minéraux. Presque toutes les parties du *Moringa* peuvent être utilisées comme source de nutrition avec d'autres valeurs utiles, mais notre étude a porté sur les feuilles.

Marqueurs du stress oxydatif

Rôle de *Moringa oleifera* dans la régulation du stress oxydatif induit par le diabète a été démontré par plusieurs études (6-7). Les teneurs totales en phénoliques, flavonoïdes et flavonols dans l'extrait ont été trouvées à 120 mg/g de GAE, 40,5 mg/g de QE et 12,12 mg/g de QE, respectivement. D'autre part, les résultats du test FRAP des feuilles de *M. oleifera* étaient (85,00 ± 5,00) µM/g de poudre d'extrait (20). Les activités antioxydantes de la niazirine ont été mesurées par le test FRAP, le test de piégeage des radicaux DPPH et ABTS. Les valeurs IC50 du piégeage du radical DPPH et du piégeage du radical ABTS pour la niazirine étaient de 18,55 µM, 27,34 µM, respectivement. De plus, le pouvoir antioxydant réducteur ferrique augmentait avec l'augmentation des doses (21).

Nous constatons une diminution progressive des résultats du statut antioxydant total (TAS) exprimés en termes d'équivalent micro molaire de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par litre (µmol H₂O₂ équivalent/L). Les valeurs moyennes du TAS entre les trois groupes étaient statistiquement significatives (P= 0,000), les témoins avaient un taux moyen de 1,80±0,78, groupe M3 : 1,47±0,72 et le groupe M6 : 1,56±,36 µmol/l. (ANOVA, P-value = 0,04567 ; Bartlett's chi square = 26,82374 ; df = 2 ; P-value = 0,00000) a quoi représente ces deux p values (P-value = 0,04567 ; P-value = 0,00000) ?. On constate une normalisation du taux oxydant total sous traitement avec supplémentation en poudre de feuille de *Moringa* évoluant de 52% avant le traitement (témoins), à 87% au bout de six mois (Groupe M6). (Chi-Squared = 18,3124 ; df = 4; Probability = 0,0011).

Nous constatons dans la littérature que ces résultats sont comparables à certaines recherches expérimentales in vivo et in vitro. L'étude de la production de ROS dans les VSMCs la génération de ROS était significativement réduite par l'incubation avec de la niazirine (5 µM) (p < 0,01) ou de la NAC (5 µM) (p < 0,01). Nous avons relevé dans cette étude expérimentale in vitro que la niazirine avait une bonne activité de piégeage des radicaux libres atténuant significativement la prolifération des VSMC induites par l'hyperglycémie (21).

Le taux moyen de superoxyde dismutase (SOD) plasmatique n'a pas augmenté d'une manière significative après l'addition du moringa au traitement des patients diabétique (groupes M3 et M6) (P-value = 0,50742). Cependant une différence entre les trois groupes (témoins,

groupe M3 et groupe M6 était observée dans le sens de normalisation du taux au sein des thérapeutiques (P value = 0,00000). Le nombre de patients ayant un taux plasmatique de SOD normalisé avant et après l'addition du moringa au traitement a évolué de 45,83% à 62,5%, par une augmentation du taux de SOD plasmatique pour ceux qui avaient un taux faible et une diminution à la normale pour ceux qui avaient un taux élevé. (Chi-Squared = 9,7778 ; df = 4; Probability = 0,0443)

Cependant, le taux moyen de superoxyde dismutase (SOD) érythrocytaire a augmenté progressivement et de manière significative (ANOVA, P-value = 0,00000) avec l'addition de la poudre du moringa au traitement des patients diabétiques (225,27±39,08 UI/L ; 1365,66±271,95 UI/L ; 1556,04±291,05 UI/L respectivement pour le groupe témoin ; le groupe M3 ; et le groupe M6 : La concentration érythrocytaire en superoxyde dismutase (SOD) était à 100% anormale avant l'instauration du moringa dans le groupe témoin, et 100% normale à élever au bout de trois mois et six mois de traitement dans les groupes M3 et M6. (Chi-Squared = 142,8547 ; df = 4 ; Probability = 0).

Le taux moyen de superoxyde dismutase (SOD) érythrocytaire a augmenté progressivement de manière significative après l'addition du moringa au traitement des patients diabétiques (ANOVA, P-value = 0,00000). La différence entre les différents groupes thérapeutiques était également significative (Bartlett's chi square = 128,81944 ; df = 2 ; P value=0,00000)

La concentration érythrocytaire en superoxyde dismutase (SOD) était à 100% anormale avant l'instauration du moringa, et 100% normale a élever au bout de trois mois et six mois de traitement. (Chi-Squared = 142,8547 ; df = 4; Probability = 0)

Il a été rapporté dans l'étude de Wang et al. Que la niazirine de *Moringa oleifera* atténuait le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie par le biais de la voie PKC ζ /Nox4. En augmentant la capacité antioxydante totale (T-AOC), la superoxyde dismutase (SOD)(11, 21). Le taux moyen de glutathion peroxydase (GPX) plasmatique a augmenté progressivement de manière significative après l'addition du moringa au traitement des patients diabétiques. Il

était de : 35,42±25,96 ; 54,44±23,78 UI/L ; 50,56 ±18,13 UI/L respectivement

Pour le groupe témoin ; pour le groupe M3 ; et pour le groupe M6 avec une différence significative (ANOVA, P-value = 0,00000). La différence entre les différents groupes thérapeutiques était également significative (Bartlett's chi square = 9,50013 ; df = 2 ; P value = 0,00865)

La concentration plasmatique de glutathion peroxydase (GPX) trop basse était de 81,25% dans le groupe témoin, et 2,08% dans groupe M6. L'instauration du moringa, a fait évoluer la normalisation du taux de GPX plasmatique de normal et élevé à 97,92% d'une manière très significative. (Chi-Squared = 139,6658 ; df = 4; Probability = 0).

Le taux moyen de glutathion peroxydase (GPX) érythrocytaire a augmenté progressivement de manière significative après l'addition du moringa au traitement des

patients diabétiques, il était de 35,42±25,96 UI/L pour les témoins ; 54,44±23,78 UI/L; pour le groupe M3 et de 50,56±18,13UI/L pour le groupe M6. (ANOVA, P-value = 0,00017). La différence entre les différents groupes thérapeutiques était également significative (Bartlett's chi square = 6,10083 ; df = 2; P value = 0,04734).

La concentration érythrocytaire de glutathion peroxydase (GPX) était à 50,0% anormale avant l'instauration du moringa, et 100,0% normale a été élevée au bout de trois mois et six mois de traitement. Le pourcentage de patients normalisés entre les différents groupes thérapeutiques a progressivement augmenté 39,58% pour les témoins ; 62,50% pour le groupe M3 ; et 87,50% (Chi-Squared = 43,6644 ; df = 4; Probability = 0).

D'autre étude confirme nos hypothèses. Le rôle du système enzymatique antioxydant suite à un extrait hydroéthanolique brut de feuilles de *Moringa oleifera* (MO) dans l'hépatotoxicité aiguë induite par le paracétamol (PCM). Un extrait hydroéthanolique (80%) de MO (200 mg/kg et 800 mg/kg ; p.o.) a été rapporté. Le niveau de glutathion peroxydase (GPx), de glutathion-transférase (GST) et de glutathion réductase (GR) a été rétabli à un niveau proche de la normale dans les groupes qui ont été prétraités avec la MO (22).

Le taux moyen de glutathion réductase (GR) plasmatique a augmenté progressivement de manière significative après l'addition du moringa au traitement des patients diabétiques dans les différents groupes thérapeutiques (témoins : 43,62±27,99 UI/L ; groupe M3 : 60,87±17,75 UI/L ; groupe M6 : 66,89±16,98 UI/L) (ANOVA, P-value = 0,00000). La différence entre les différents groupes thérapeutiques était significative (Bartlett's chi square = 15,26261 ; df = 2; P value = 0,00049).

La concentration plasmatique de glutathion réductase (GR) était à 43,75% anormale avant l'instauration du moringa, et 95,83% normale a élever au bout de trois mois et six mois de traitement. (Chi-Squared = 30,9524 ; df = 4; Probability = 0)

Le taux moyen de glutathion réductase (GR) érythrocytaire n'a pas changé d'une manière significative après l'addition du moringa au traitement des patients diabétique, (ANOVA, P-value = 0,65235). Il n'y a pas eu également de différence entre les trois groupes (avant, et trois et six mois après le traitement) (Bartlett's chi square = 0,96706 ; df = 2 ; P value = 0,61660).

Le nombre de patients ayant un taux érythrocytaire de glutathion réductase (GR) normalisé avant et après l'addition du moringa au traitement a évolué de 47,922% à 60,42%, par une augmentation du taux de GR érythrocytaire pour ceux-là qui avaient un taux faible à la normale sans que cela ne soit statistiquement significative (Chi-Squared = 3,3211 ; df = 4; Probabilité = 0,5056).

L'augmentation des activités de glutathion réductase (GR) a été confirmé par Aju et al. Leur étude visait à déterminer le rôle protecteur de *Moringa oleifera* dans les tissus cardiaques dans des conditions diabétiques.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de cette étude montrent que les poudres de feuilles de moringa séchées avaient un impact positif sur l'équilibre des marqueurs du stress oxydatif (TAS, SOD,

GPx, GR) et de manière significative. Cette étude nous donne la perspective de mettre à la disposition des patients diabétiques de type 2 un médicament traditionnel amélioré à base des feuilles de *Moringa oleifera*. Elle ouvre également la voie à d'autres recherches sur les bienfaits de cette plante sur d'autres pathologies.

RÉFÉRENCES

1. Federation WHOID. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia : report of a WHO/IDF consultation. . Report of a WHO/IDF consultation. 2006.
2. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(1):4-14.
3. Auberval N, Dal S, Bietiger W, Pinget M, Jeandidier N, Maillard-Pedracini E, et al. Metabolic and oxidative stress markers in Wistar rats after 2 months on a high-fat diet. *Diabetol Metab Syndr.* 2014;6:130.
4. Bonnard C, Durand A, Peyrol S, Chanseau E, Chauvin MA, Morio B, et al. Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *J Clin Invest.* 2008;118(2):789-800.
5. Wang PW, Kuo HM, Huang HT, Chang AY, Weng SW, Tai MH, et al. Biphasic response of mitochondrial biogenesis to oxidative stress in visceral fat of diet-induced obesity mice. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(16):2572-88.
6. Aderinola TA, Fagbemi TN, Enujiugha VN, Alashi AM, Aluko RE. Amino acid composition and antioxidant properties of *Moringa oleifera* seed protein isolate and enzymatic hydrolysates. *Heliyon.* 2018;4(10):e00877.
7. Gothai S, Muniandy K, Zarin MA, Sean TW, Kumar SS, Munusamy MA, et al. Chemical Composition of *Moringa oleifera* Ethyl Acetate Fraction and Its Biological Activity in Diabetic Human Dermal Fibroblasts. *Pharmacogn Mag.* 2017;13(Suppl 3):S462-S9.
8. Qwele K, Hugo A, Oyedemi SO, Moyo B, Masika PJ, Muchenje V. Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with *Moringa (Moringa oleifera)* leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat Sci.* 2013;93(3):455-62.
9. Marrufo T, Nazzaro F, Mancini E, Fratianni F, Coppola R, De Martino L, et al. Chemical composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Moringa oleifera* Lam. cultivated in Mozambique. *Molecules.* 2013;18(9):10989-1000.
10. Nausier T, Koppenol WH, Gebicki JM. The kinetics of oxidation of GSH by protein radicals. *Biochem J.* 2005;392(Pt 3):693-701.
11. Omotoso GO, Gbadamosi IT, Afolabi TT, Abdulwahab AB, Akinlolu AA. Ameliorative effects of *Moringa* on cuprizone-induced memory decline in rat model of multiple sclerosis. *Anat Cell Biol.* 2018;51(2):119-27.
12. Noureen A, Jabeen F, Tabish TA, Zahoor MK, Ali M, Iqbal R, et al. Ameliorative effects of *Moringa oleifera* on copper nanoparticle induced toxicity in *Cyprinus carpio* assessed by histology and oxidative stress markers. *Nanotechnology.* 2018;29(46):464003.
13. Abdull Razis AF, Ibrahim MD, Kntayya SB. Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(20):8571-6.
14. Barichella M, Pezzoli G, Faierman SA, Raspini B, Rimoldi M, Cassani E, et al. Nutritional characterisation of Zambian *Moringa oleifera*: acceptability and safety of short-term daily supplementation in a group of malnourished girls. *Int J Food Sci Nutr.* 2018;1-9.
15. Zhang T, Si B, Deng K, Tu Y, Zhou C, Diao Q. Effects of feeding a *Moringa oleifera* rachis and twig preparation to dairy cows on their milk production and fatty acid composition, and plasma antioxidants. *J Sci Food Agric.* 2018;98(2):661-6.
16. Jung IL. Soluble extract from *Moringa oleifera* leaves with a new anticancer activity. *PLoS One.* 2014;9(4):e95492.
17. Jaffiol C. Le diabète sucré en Afrique : un enjeu de santé publique. *Bull Acad Natle Méd.* 2011;195(6):1239-54.
18. OUEDRAOGO M, OUEDRAOGO S.M, BIRBA E, J. DY. COMPLICATIONS AIGUËS DU DIABETE SUCRE AU CENTRE HOSPITALIER NATIONAL YALGADO OUEDRAOGO. *Médecine d'Afrique Noire.* 2000;47(12):505-7.
19. Busani Moyo, Patrick J, Masika, Arnold Hugo, Muchenje. V. Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology.* 2011;10(60):8.
20. Jaiswal D, Rai PK, Mehta S, Chatterji S, Shukla S, Rai DK, et al. Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidative stress. *Asian Pac J Trop Med.* 2013;6(6):426-32.
21. Wang F, Bao Y, Shen X, Zengin G, Lyu Y, Xiao J, et al. Niazirin from *Moringa oleifera* Lam. attenuates high glucose-induced oxidative stress through PKC ζ /Nox4 pathway. *Phytomedicine.* 2021;86:153066.
22. Kou X, Li B, Olayanju JB, Drake JM, Chen N. Nutraceutical or Pharmacological Potential of *Moringa oleifera* Lam. *Nutrients.* 2018;10(3).
23. Aju BY, Rajalakshmi R, Mini S. Protective role of *Moringa oleifera* leaf extract on cardiac antioxidant status and lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. *Heliyon.* 2019;5(12):e02935.